

環境庁殿

最 終 報 告 書

6-tert-ブチル-*m*-クレゾールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

(試験番号：92044)

1999 年 3 月 31 日作成

財団法人 化学製品検査協会
化学品安全センター 持久性有機物研究所

陳 述 書

財団法人 化 学 品 検 査 協 会
化学品安全センター 久留米研究所

試験委託者： 環境庁

表 題： 6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性
試験

試 験 番 号： 92044

上記試験は契約書別添2「生態影響試験実施に関する基準」(平成7年9月26日)に準拠したものである。

1999年 3 月 31 日

運営管理者



信 頼 性 保 証 書

財団法人 化 学 品 検 査 協 会
化学品安全センター 久留米研究所

試験委託者： 環境庁

表 題： 6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾールのヒメダカ(*Oryzias Latipes*)に対する急性毒性
試験

試験番号： 92044

本試験は試験計画書及び標準操作手順書に従って実施され、本最終報告書には試験に使用した方法、手順が正確に記載されており、試験結果は生データを正確に反映していることを下記の通り確認した。

監査又は査察内容	実施日	報告日(運営管理者)	報告日(試験責任者)
試験計画書監査	1999 年 1 月 7 日	1999 年 1 月 8 日	1999 年 1 月 8 日
試験計画書の変更監査	1999 年 3 月 24 日	1999 年 3 月 24 日	1999 年 3 月 24 日
試験実施状況査察	1999 年 2 月 8 日	1999 年 2 月 15 日	1999 年 2 月 15 日
試験実施状況査察	1999 年 2 月 12 日	1999 年 2 月 15 日	1999 年 2 月 15 日
最終報告書監査	1999 年 3 月 31 日	1999 年 3 月 31 日	1999 年 3 月 31 日

1999 年 3 月 31 日

信頼性保証部門責任者



試験実施概要

1 表 題

6-tert-ブチル-*m*-クレゾールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

2 試験目的

6-tert-ブチル-*m*-クレゾールについて、ヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験を行い、半数致死濃度(LC50)を求める。

3 試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン No.203「魚類急性毒性試験」(1992年)に準拠した。

4 GLPの適用

本試験は契約書別添 2「生態影響試験実施に関する基準」(平成 7 年 9 月 26 日)に準拠した。

5 試験委託者

名 称： 環境庁

住 所： (〒100-0013)東京都千代田区霞が関 1-2-2

6 試験受託者

名 称： 財団法人 化学品検査協会

住 所： (〒136-0071)東京都江東区亀戸 5-6-21

7 試験施設

名 称： 化学品安全センター 久留米研究所

住 所： (〒830-0023)福岡県久留米市中央町 19-14

運営管理者： XXXXXXXXXX

8 試験関係者

試験責任者

[REDACTED]

試験担当者

生物試験担当

[REDACTED]

[REDACTED]

分析担当

[REDACTED]

9 最終報告書の作成

1999 年 3 月 31 日

試験責任者

氏名

[REDACTED]

10 試験期間

試験開始日

1999 年 1 月 7 日

試験終了日

1999 年 3 月 31 日

暴露期間

1999 年 2 月 8 日 ~ 1999 年 2 月 12 日

11 保 管

試験計画書、生データ、記録文書、最終報告書及び被験物質は、最終報告書作成後10年間、財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター 久留米研究所の保管施設に保管する。その後の保管については試験委託者と協議のうえ決定する。

目 次

	頁
要 旨	1
1 被 験 物 質	2
1.1 名称、構造式及び物理化学的性状	2
1.2 被験物質の確認及び保管条件下での安定性	3
2 試 験 生 物	3
3 試 験 方 法	4
3.1 試 験 条 件	4
3.2 希 釈 水	4
3.3 試験容器及び恒温槽等	4
3.4 試験濃度の設定	4
3.5 試験液の調製	5
3.6 被験物質の分析	5
3.7 試 験 操 作	5
3.8 数値の取扱い	5
4 結果の算出	6
5 結果及び考察	6
5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	6
5.2 試験液中の被験物質濃度	6
5.3 半数致死濃度 (LC50)	6
5.4 0%死亡最高濃度及び100%死亡最低濃度	6
5.5 毒 性 症 状	6
5.6 試験液の水溫、溶存酸素濃度(DO)及びpH	7
5.7 試験液の状態	7
Table 1～8	8～14
Figure 1	15
付属資料－1 希釈水の水質	
付属資料－2 試験液の分析方法及び分析チャート	

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題

6-tert-ブチル-*m*-クレゾールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

試験番号

92044

試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン No.203「魚類急性毒性試験」(1992年)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質： 6-tert-ブチル-*m*-クレゾール
- 2) 試験生物： ヒメダカ(*Oryzias latipes*)
- 3) 生物数： 10尾／1試験区(1連につき5尾で1試験区10尾)
- 4) 暴露期間： 96時間
- 5) 暴露方式： 半止水式(48時間後に試験液を交換)
- 6) 試験濃度： 4.50、3.46、2.66、2.05、1.58 mg/L(公比：1.3)及び対照区
- 7) 連 数： 1試験区につき2連
- 8) 試験液量： 1試験容器(1連)につき2.5 L
- 9) 試験水温： 24±1℃
- 10) 照 明： 室内光、16時間明／8時間暗
- 11) エアレーション： なし
- 12) 試験液中の被験物質の分析： 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)
(暴露開始時、換水前)

結 果

- 1) 96時間の半数致死濃度 (LC50) =2.66 mg/L (95%信頼限界：2.05～3.46 mg/L)
- 2) 0%死亡最高濃度=2.05 mg/L
- 3) 100%死亡最低濃度=3.46 mg/L
(上記濃度は、全て設定濃度に基づく)

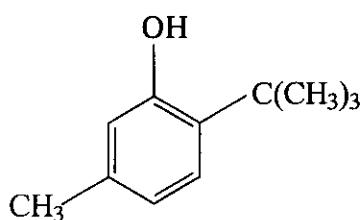
1 被 験 物 質

本最終報告書において6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾールは、次の名称及び品質等を有するものとする。被験物質に関する情報については供給者提供の添付資料等によった。

1.1 名称、構造式及び物理化学的性状

- 1) 名 称： 6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾール
(CAS 番号 88-60-8)

- 2) 構 造 式：



- 3) 分 子 式： $C_{11}H_{16}O$
4) 分 子 量： 164.24
5) 外 観： 赤味の黄色透明液体*¹
6) 安 定 性： 不明
7) 1-オクタノール／水分配係数(logP)： 不明
8) pKa： 不明
9) 水への溶解度： 不明
10) 蒸 気 圧： 不明
11) 純 度： 98.3% (GC 法)*¹
12) ロット番号： FHE01
13) 供 給 者： XXXXXXXXXX

情 報 源

*1： 供給者提供の添付資料

1.2 被験物質の確認及び保管条件下での安定性

被験物質は当研究所の冷蔵庫に保管した。

入手した被験物質について赤外吸収スペクトルを測定し、被験物質の特性と矛盾が認められないことを確認した。暴露終了後にも同様にスペクトルを測定し、暴露開始前に測定したスペクトルと比較した結果、スペクトルに変化は無かったことより被験物質は暴露終了時までには安定であったと確認された。

2 試験生物

試験に使用したヒメダカ(*Oryzias latipes*)を下記に示した。試験生物の体長(被鱗体長)は 2.0 ± 0.5 cmであった。

- 1) 一般名： ヒメダカ
- 2) 学名： *Oryzias latipes*
- 3) 体長： 1.9 cm (1.8～2.0 cm), n=10
- 4) 体重： 0.11 g (0.083～0.12 g), n=10
- 5) ロット番号： LNR-990107
- 6) 購入先： 中島養魚場(〒869-0123 熊本県玉名郡長洲町大字長洲 2029)
- 7) 購入日： 1999 年 1 月 7 日

順 化

試験条件と同条件(水質、温度等)で12日間以上、飼育順化した。餌は市販のテトラミン(テトラベルケ社)を与えた。暴露開始の24時間前からは給餌しなかった。試験には健康で肉眼的に正常な個体を使用した。暴露開始前7日間の死亡率は5%以下であった。また、基準物質〔硫酸銅(Ⅱ)五水和物、試薬特級、和光純薬工業株式会社〕の96時間LC50は1.22 mg/Lであった。

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式：被験物質を含む試験液へ試験生物を暴露する薬浴方式を用いた。
試験は48時間後に試験液を交換する半止水式で行った。
- 2) 暴露期間：96時間
- 3) 連数：1試験区に付き2連
- 4) 生物数：10尾／試験区(1連に付き5尾で1試験区10尾)
- 5) 試験液量：1試験容器(1連)に付き2.5 L
- 6) 換水率：1回／2日
- 7) 試験水温：24±1℃
- 8) 照明：室内光、16時間明／8時間暗
- 9) 給餌：無給餌
- 10) エアレーション：なし

3.2 希釈水

脱塩素水(久留米市水道水を活性炭処理し、残留塩素等を除去したもので、充分通気した)を使用した。希釈水の主な水質として、硬度は52.0 mg/L(CaCO_3 換算)、pHは7.5であった。希釈水使用時にはオルトトリジン法によって残留塩素濃度が0.02 mg/L以下であることを確認した。

[付属資料－1]

3.3 試験容器及び恒温槽等

- 1) 試験容器：3.0 L容の蓋付ガラス製容器(直径16 cm、深さ17 cm)を用いた。
- 2) 恒温槽：加温冷却機によって試験容器内の水温を24±1℃に維持する恒温槽を用いた。
- 3) 水温計：検定済ガラス製棒状温度計
- 4) pH計：ガラス電極式水素イオン濃度計 HM-14P 型(東亜電波工業)
- 5) 溶存酸素計：溶存酸素計58型(Yellow Springs Instrument Co., Inc.)

3.4 試験濃度の設定

本試験に先立って行った予備試験の結果から、試験濃度は4.50 mg/Lを最高濃度として公比1.3で5濃度区(4.50、3.46、2.66、2.05及び1.58 mg/L)を設定した。対照には希釈水のみに対照区を設けた。

3.5 試験液の調製

必要量の被験物質を希釈水に溶解させ100 mg/Lの試験原液を調製した。試験液は、必要量の試験原液と希釈水を混合して調製した。

3.6 被験物質の分析

暴露開始時及び換水前(48時間後または全個体死亡時)に各試験区の2試験容器の中層より試験液を等量採取して混合した後、HPLCにより分析した。試験液中の被験物質の分析に際しては、試料測定毎に標準溶液(濃度1.00 mg/L)の測定を行い、そのピーク面積比から定量した。詳細は付属資料-2に示した。

3.7 試験操作

暴露開始時に試験生物と同水槽で順化した魚10尾の重量及び被鱗体長を測定した。暴露期間中給餌は行わなかった。

各試験区(ただし、各1試験容器)の試験液の水温、溶存酸素濃度(DO)、pHを測定後、試験容器中に試験生物を1試験区当り10尾投入した。水温、DO、pHは暴露期間中毎日1回測定した。また、換水前後にも、水温、DO、pHを測定した。

暴露開始3、24、48、72及び96時間後に死亡個体数を記録するとともに観察された一般的症例或いは特異的症例(背曲がり、出血、体色変化、粘液の分泌等)を記録した。一般的症例と定義を下記に示した*。死亡個体を発見した場合水質の悪化が起こらないよう速やかに取り除いた。

* 一般的症例と定義

死 亡： 刺激を与えた場合に反応の認められないもの。

異常呼吸： 対照区の魚と比較して鰓蓋の動きが異なるもの。

異常遊泳： 明らかに対照区の魚と異なる遊泳をしたもの。動作の緩慢、過敏、痙攣、反転等。

遊泳不能： 底部または水面で動いてはいるものの、水中を遊泳することが不可能なもの。横転、仮死を含む。

3.8 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8202-1985 参考 3 規則 Bによった。

4 結果の算出

各濃度区での死亡数と供試個体数(10尾)から死亡率(%)を算出し、Binomial法により半数致死濃度(LC50)を算出した。また、その95%信頼限界も示した。なお、被験物質の測定濃度が設定の $\pm 20\%$ 以内であったので、結果の算出には設定濃度を用いた。

5 結果及び考察

5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

該当する要因はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時及び換水前(48時間後または全個体死亡時)に試験液中の被験物質濃度を測定した。被験物質の測定濃度の設定値に対する割合は、暴露開始時で106～110%、換水前で94.0～106%であり、いずれもほぼ設定濃度に保たれていた。

[Table 1 (p.8), 付属資料-2]

5.3 半数致死濃度(LC50)

6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾールの96時間の半数致死濃度(LC50)は2.66 mg/Lであり、その95%信頼限界は2.05～3.46 mg/Lであった。対照区の死亡率は0%であった。

[Table 2,3 (p.9,10), Figure 1 (p.15)]

5.4 0%死亡最高濃度及び100%死亡最低濃度

6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾールに96時間暴露したヒメダカの0%死亡最高濃度は2.05 mg/Lであり、100%死亡最低濃度は3.46 mg/Lであった。

[Table 4 (p.10), Figure 1 (p.15)]

5.5 毒性症状

毒性症状として異常遊泳と遊泳不能が観察された。対照区では暴露期間中に症状は観察されなかった。

[Table 5 (p.11)]

5.6 試験液の水溫、溶存酸素濃度(DO)及びpH

暴露期間中に測定した水溫は24.0～24.8℃であった。DOは6.3～8.3 mg/Lであり、飽和溶存酸素濃度の60%以上であった(24.0℃の飽和溶存酸素濃度：8.25 mg/L)。pHは7.2～7.5であった。

[Table 6～8 (p.12～14)]

5.7 試験液の状態

調製時の試験液は無色透明で、その状態は換水前まで変わらなかった。

以 上

Table 1. Concentrations of 6-*tert*-butyl-*m*-cresol in acute toxicity test using orange killifish (*Oryzias latipes*) under semi-static conditions

Nominal concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L) (Percentage of nominal)		
	0-hour ^{a)}	48-hour ^{b)}	Mean ^{c)}
Control	n.d.	n.d.	n.d.
1.58	1.68 (106)	1.48 (94.0)	1.58 (99.9)
2.05	2.19 (107)	1.97 (96.0)	2.08 (101)
2.66	2.82 (106)	2.62 (98.7)	2.72 (102)
3.46	3.79 (110)	3.67 * (106)	3.73 (108)
4.50	4.85 (108)	4.72 * (105)	4.79 (106)

* at 24-hour

n.d. : < 0.200 mg/L

a) fresh solutions

b) expired solutions

c) The values are expressed as time-weighted means calculated by the following equation:

$$(C_0 - C_{48}) / (\ln C_0 - \ln C_{48})$$

where

C_0 : the measured concentration at 0-hour

C_{48} : the measured concentration at 48-hour

$\ln C_0$: the natural logarithm of C_0

$\ln C_{48}$: the natural logarithm of C_{48} .

Table 2. Mortality of orange killifish (*Oryzias latipes*) exposed to 6-*tert*-butyl-*m*-cresol

Nominal concentration (mg/L)	Cumulative number of dead fish (Percent mortality)			
	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1.58	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2.05	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2.66	1 (10)	3 (30)	5 (50)	5 (50)
3.46	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
4.50	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)

Table 3. Calculated LC50 values for orange killifish (*Oryzias latipes*) exposed to 6-*tert*-butyl-*m*-cresol based on nominal concentrations

Exposure time (hour)	LC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)			Statistical method
24	2.95	2.66	—	3.46	Binomial
48	2.82	2.05	—	3.46	Binomial
72	2.66	2.05	—	3.46	Binomial
96	2.66	2.05	—	3.46	Binomial

Table 4. Highest concentration in 0% mortality and lowest concentration in 100% mortality based on nominal concentrations

Exposure time (hour)	Highest concentration in 0% mortality (mg/L)	Lowest concentration in 100% mortality (mg/L)
24	2.05	3.46
48	2.05	3.46
72	2.05	3.46
96	2.05	3.46

Table 5. Toxic symptoms observed in orange killifish (*Oryzias latipes*) during exposure to 6-*tert*-butyl-*m*-cresol under semi-static test condition

Nominal concentration (mg/L)	Symptoms				
	3-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	-	-	-	-	-
1.58	-	AB	AB	AB	AB
2.05	AB	AB	AB	AB IM	AB IM
2.66	AB	IM	AB IM	IM	IM
3.46	IM	n	n	n	n
4.50	IM	n	n	n	n

AB : Abnormal behavior

IM : Immobility

n : No observation was made because all orange killifish had died at this observation time.

- : No symptom

Table 6. Temperature of test solutions during 96-hour semi-static exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 6-*tert*-butyl-*m*-cresol

Nominal concentration (mg/L)		Temperature (°C)				
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	new	24.0		24.5		
	old		24.0	24.5	24.8	24.3
1.58	new	24.0		24.5		
	old		24.1	24.5	24.8	24.5
2.05	new	24.0		24.5		
	old		24.2	24.5	24.8	24.5
2.66	new	24.0		24.5		
	old		24.2	24.5	24.8	24.5
3.46	new	24.0		n		
	old		24.0	n	n	n
4.50	new	24.0		n		
	old		24.0	n	n	n

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions at 24-hour and 48-hour after preparation

n : No measurement was made because all orange killifish had died at this observation time.

Table 7. Dissolved oxygen concentrations of test solutions during 96-hour semi-static exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 6-*tert*-butyl-m-cresol

Nominal concentration (mg/L)		Dissolved oxygen concentration (mg/L)				
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	new	8.3		8.3		
	old		6.7	6.8	7.0	7.0
1.58	new	8.3		8.3		
	old		6.6	6.5	6.9	6.5
2.05	new	8.3		8.3		
	old		6.7	6.3	7.0	6.6
2.66	new	8.3		8.3		
	old		6.8	6.5	7.6	7.1
3.46	new	8.3		n		
	old		8.0	n	n	n
4.50	new	8.3		n		
	old		8.0	n	n	n

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions at 24-hour and 48-hour after preparation

n : No measurement was made because all orange killifish had died at this observation time.

Table 8. pH values of test solutions during 96-hour semi-static exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 6-*tert*-butyl-*m*-cresol

Nominal concentration (mg/L)		pH				
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	new	7.3		7.3		
	old		7.3	7.3	7.3	7.2
1.58	new	7.4		7.4		
	old		7.3	7.4	7.4	7.2
2.05	new	7.4		7.4		
	old		7.3	7.4	7.3	7.3
2.66	new	7.4		7.4		
	old		7.3	7.4	7.3	7.3
3.46	new	7.5		n		
	old		7.2	n	n	n
4.50	new	7.5		n		
	old		7.3	n	n	n

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions at 24-hour and 48-hour after preparation

n : No measurement was made because all orange killifish had died at this observation time.

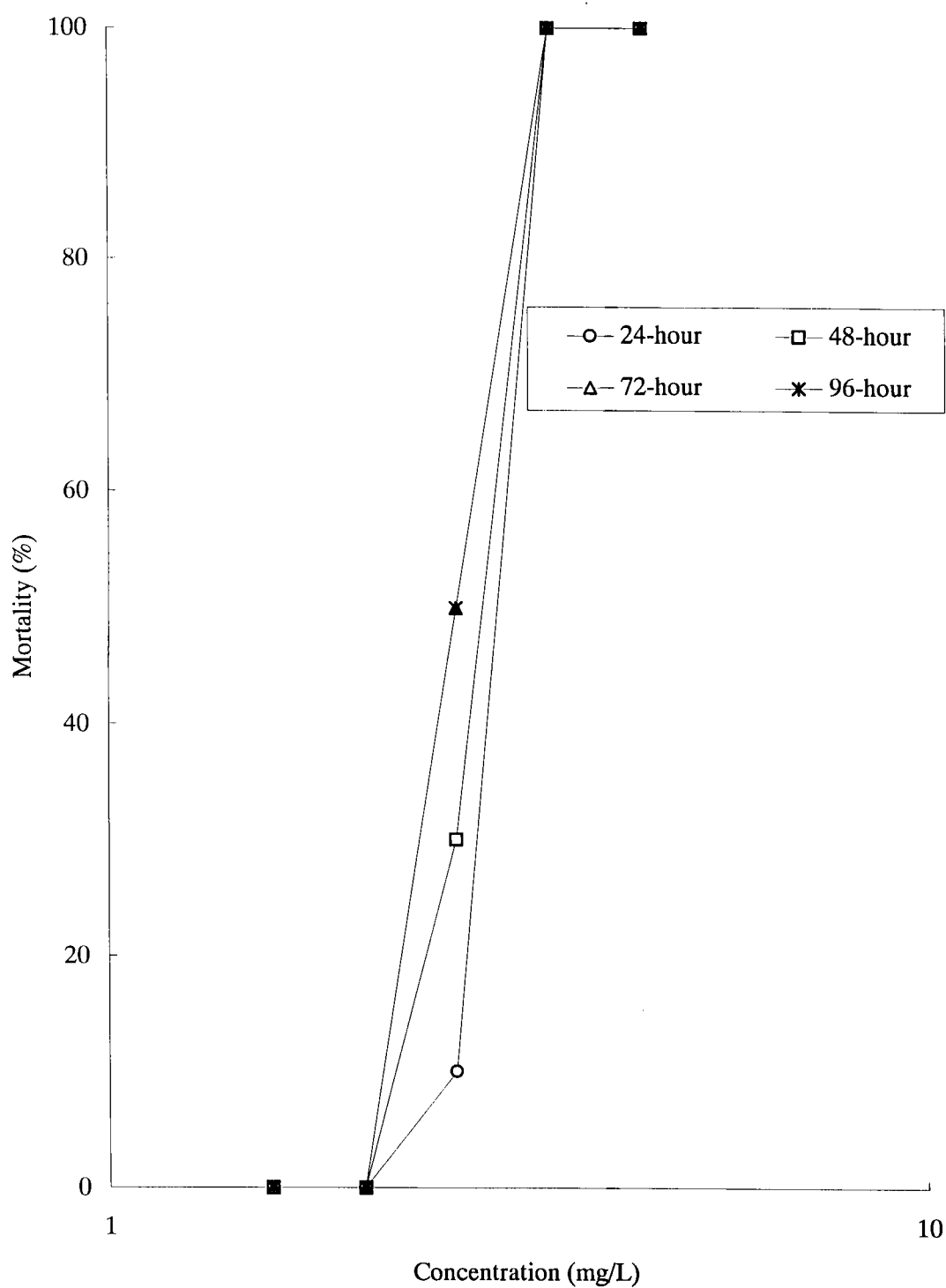


Figure 1. Concentration - toxicity curve of 6-tert-butyl-m-cresol in orange killifish (*Oryzias latipes*).

付属資料－1

希釈水の水質

(全 2 頁)

Appendix 1. Water quality of dilution water

Parameter	Concentration	Lower limit
	1999.Feb.3	of detection
pH	7.5	
COD (mg/L)	1.7	
Coliform group bacteria (MPN/100 mL)	0	
Total phosphorus (mg/L)	0.006	
Total mercury (mg/L)	n.d.	0.0005
Copper (mg/L)	n.d.	0.005
Cadmium (mg/L)	n.d.	0.005
Zinc (mg/L)	n.d.	0.01
Lead (mg/L)	n.d.	0.005
Aluminium (mg/L)	n.d.	0.1
Nickel (mg/L)	n.d.	0.01
Total chromium (mg/L)	n.d.	0.02
Manganese (mg/L)	n.d.	0.01
Tin (mg/L)	n.d.	0.5
Iron (mg/L)	0.03	
Cyanide (mg/L)	n.d.	0.1
Free chlorine (mg/L)	n.d.	0.01
Bromide ion (mg/L)	n.d.	0.1
Fluoride (mg/L)	n.d.	0.15
Sulfide ion (mg/L)	n.d.	0.1
Ammonia nitrogen (mg/L)	0.02	
Arsenic (mg/L)	n.d.	0.002
Selenium (mg/L)	n.d.	0.002
Evaporation residue (mg/L)	121	
Electric conductivity (μs/cm)	172	
Total hardness (as CaCO ₃) (mg/L)	52.0	
Alkalinity (mg/L)	33.0	
Sodium (mg/L)	14.0	
Potassium (mg/L)	3.52	
Calcium (mg/L)	11.6	
Magnesium (mg/L)	5.59	

Appendix 1. (continued)

Parameter		Concentration	Lower limit of detection
		1999.Feb.3	
1,2-Dichloropropane	(mg/L)	n.d.	0.006
Diazinon	(mg/L)	n.d.	0.0005
Isoxathion	(mg/L)	n.d.	0.0008
Fenitrothion (MEP)	(mg/L)	n.d.	0.0003
Isoprothiolane	(mg/L)	n.d.	0.004
Oxine cupper	(mg/L)	n.d.	0.004
Chlorothalonil (TPN)	(mg/L)	n.d.	0.004
Propyzamide	(mg/L)	n.d.	0.0008
EPN	(mg/L)	n.d.	0.0006
Dichlorvos (DDVP)	(mg/L)	n.d.	0.001
Fenobucarb (BPMC)	(mg/L)	n.d.	0.002
Iprobenfos (IBP)	(mg/L)	n.d.	0.0008
Chlornitrofen (CNP)	(mg/L)	n.d.	0.0005
Thiram	(mg/L)	n.d.	0.0006
Simazine (CAT)	(mg/L)	n.d.	0.0003
Thiobencarb	(mg/L)	n.d.	0.002
PCB	(mg/L)	n.d.	0.0005

n.d. : not detected

付属資料－2

試験液の分析方法及び分析チャート

(全 6 頁)

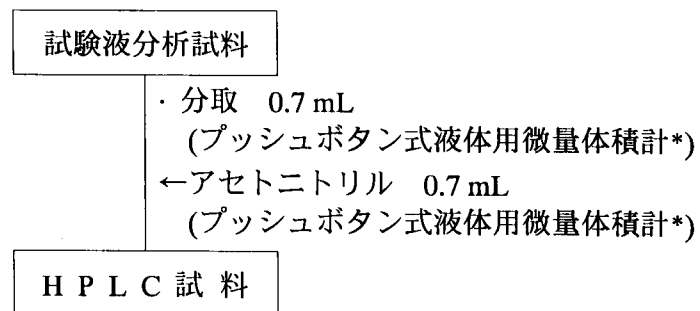
試 験 名 : 魚類急性毒性試験
 被 験 物 質 名 : 6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾール

1) 試験液の分析方法

(1) 試験液の前処理操作

混合した溶液はそのまま若しくは脱塩素水で希釈して、以下のフロースキームに従い高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によって分析した。

フロースキーム



* エッペンドルフ社製

HPLC試料中の被験物質濃度は、クロマトグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた。

(2) 被験物質溶液の調製

被験物質100 mgを電子分析天びんで正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して1,000 mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリルで希釈して20.0 mg/Lの被験物質溶液を調製した。

(3) 標準溶液の調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための標準溶液の調製は次のようにして行った。20.0 mg/Lの被験物質溶液をアセトニトリル/蒸留水 1/1(v/v)になるように希釈して1.00 mg/Lの標準溶液とした。

2) 定量条件

機	器	高速液体クロマトグラフ
ポンプ		島津製作所製 LC-10AD
検出器		島津製作所製 SPD-10A
オートインジェクター		島津製作所製 SIL-10A
カラム		L-column ODS (化学品検査協会製)
		15 cm×4.6 mmφ ステンレス製
カラム温度		40℃
溶離液		アセトニトリル/蒸留水 7/3 (v/v)
流量		1.0 mL/min
測定波長		275 nm
注入量		100 μ L
感度		
検出器		1 AU/1 V
記録計		ATTEN 2 ⁵

3) 検量線の作成

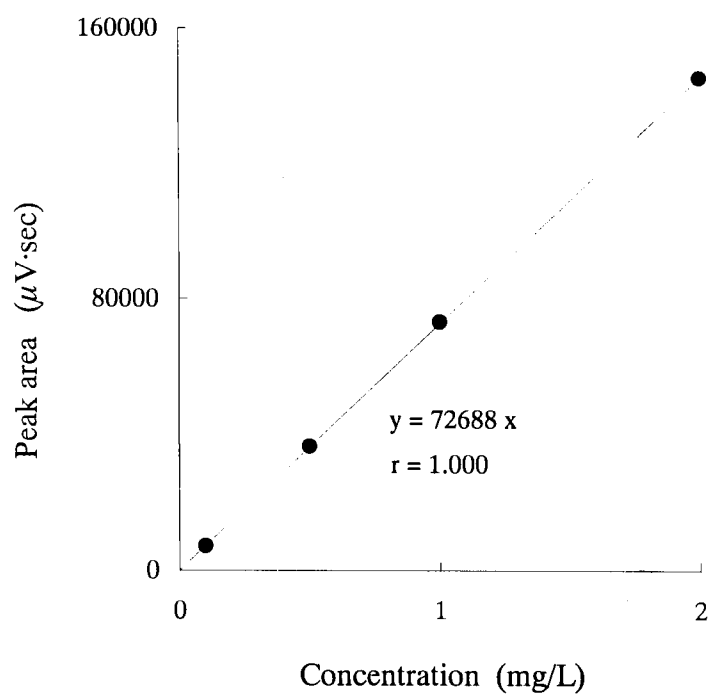
1)(3)の標準溶液の調製と同様にして0.100、0.500、1.00及び2.00 mg/Lの標準溶液を調製した。これらを2)の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのクロマトグラム上のピーク面積と濃度により、検量線を作成した。

Table of Attached Figures

Figure 1.	Calibration curve of 6- <i>tert</i> -butyl- <i>m</i> -cresol by HPLC analysis.
Figure 2-1.	Example of chromatogram. (standard solution of 1.00 mg/L, 0-hour)
Figure 2-2.	Example of chromatogram. (fresh test solution of 2.66 mg/L as nominal concentration, 0-hour)
Figure 2-3.	Example of chromatogram. (fresh test solution of control, 0-hour)
Figure 2-4.	Example of chromatogram. (standard solution of 1.00 mg/L, 48-hour)
Figure 2-5.	Example of chromatogram. (expired test solution of 2.66 mg/L as nominal concentration, 48-hour)
Figure 2-6.	Example of chromatogram. (expired test solution of control, 48-hour)

Input data

Run	Concentration (mg/L)	Peak area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)
1	0.100	7078
2	0.500	36340
3	1.00	73061
4	2.00	145200

Figure 1. Calibration curve of 6-*tert*-butyl-*m*-cresol by HPLC analysis.

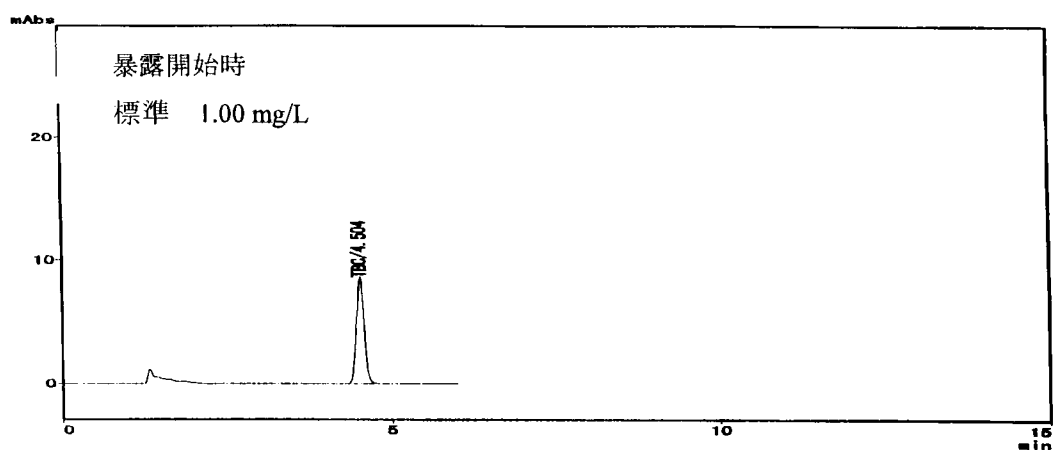


Figure 2-1. Example of chromatogram.
(standard solution of 1.00 mg/L, 0-hour)

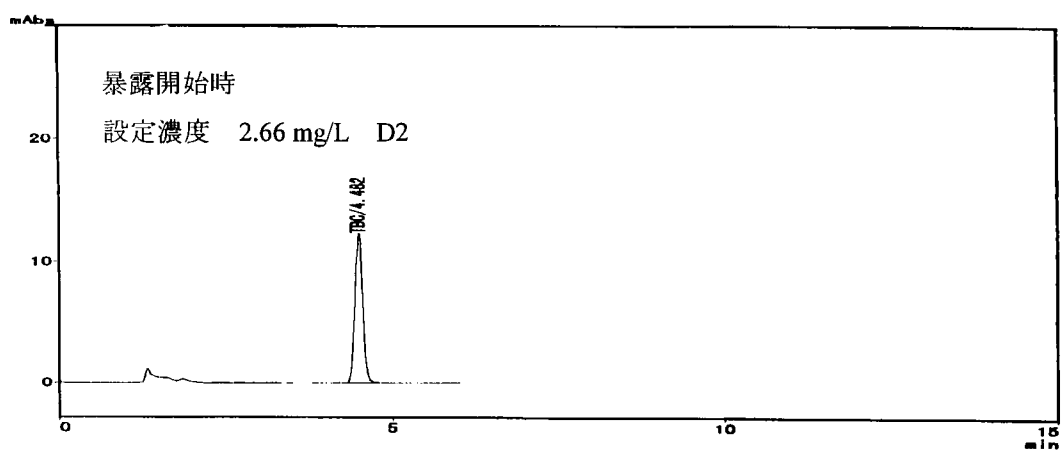


Figure 2-2. Example of chromatogram.
(fresh test solution of 2.66 mg/L as nominal concentration, 0-hour)

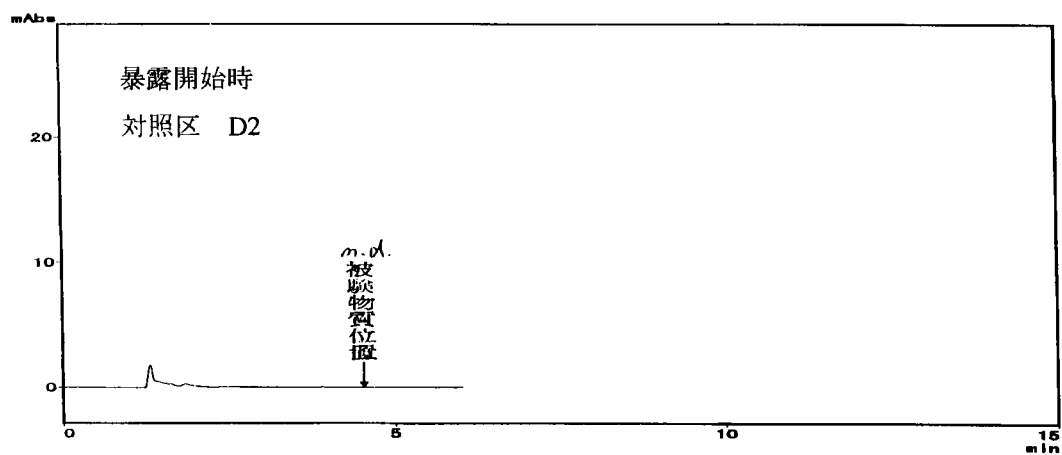


Figure 2-3. Example of chromatogram.
(fresh test solution of control, 0-hour)

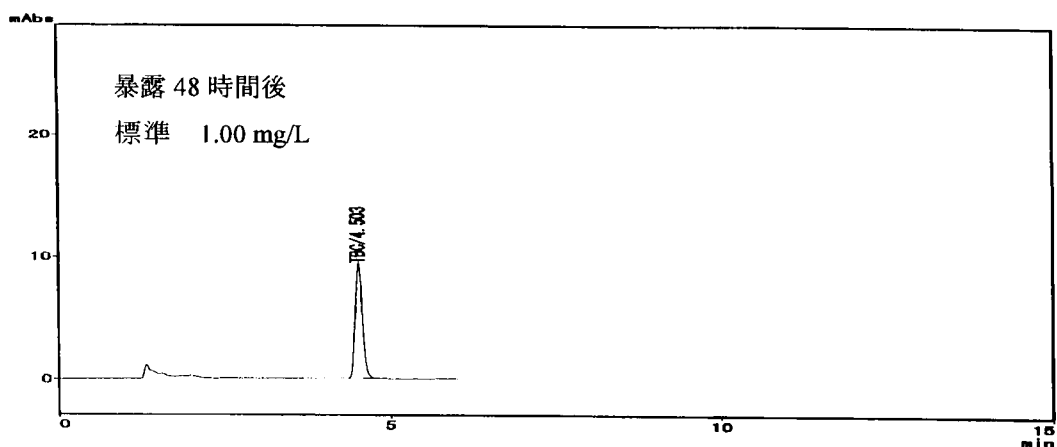


Figure 2-4. Example of chromatogram.
(standard solution of 1.00 mg/L, 48-hour)

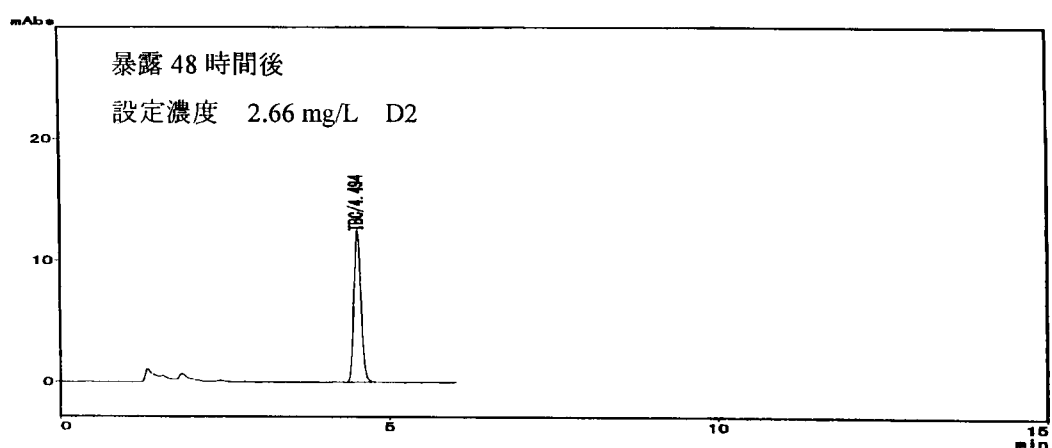


Figure 2-5. Example of chromatogram.
(expired test solution of 2.66 mg/L as nominal concentration, 48-hour)

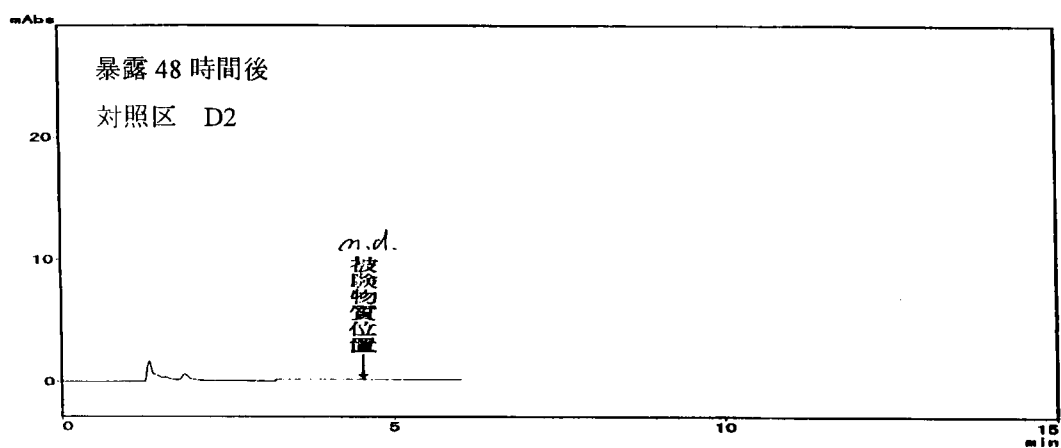


Figure 2-6. Example of chromatogram.
(expired test solution of control, 48-hour)